

B0410

CLONAGEM E EXPRESSÃO DA ENZIMA OXIDASE ALTERNATIVA DO FUNGO MONILIPHTHORA PERNICIOSA PARA ESTUDOS FUNCIONAIS VISANDO À IDENTIFICAÇÃO DE POTENCIAIS FUNGICIDAS

Paula Favoretti Vital do Prado (Bolsista FAPESP), Paulo José Pereira de Lima Teixeira, Daniela Paula de Toledo Thomazella, Juliana Ferreira de Oliveira, André Luis Berteli Ambrosio, Sandra Martha Gomes Dias (Co-orientadora) e Prof. Dr. Gonçalo Amarante Guimarães Pereira (Orientador), Instituto de Biologia - IB, UNICAMP

A enzima oxidase alternativa (AOX) é uma proteína que faz parte da via alternativa de transporte de elétrons mitocondrial. Esta enzima tem papel importante no ciclo de vida do basidiomiceto *Monilophthora perniciosa*, agente etiológico da doença vassoura de bruxa do cacauzeiro. Assim como em alguns parasitas de mamíferos, a enzima se mostra crucial durante o estágio infectivo da doença, sendo um mecanismo importante para patogenicidade do fungo. A AOX permite a evasão do sistema de defesa da planta, que envolve a produção de compostos que bloqueiam a cadeia respiratória principal. Ainda neste sentido, a atividade da enzima é também responsável pela resistência do patógeno aos fungicidas que tem como alvo a via respiratória principal. Deste modo, a inibição da atividade da AOX se mostra uma estratégia eficiente para o controle da doença. Neste contexto, o objetivo do trabalho é a clonagem e expressão heteróloga da proteína AOX de *M. perniciosa* em *Escherichia coli* e *Saccharomyces cerevisiae*, visando à expressão em larga escala para ensaios de purificação da proteína e posteriores estudos estruturais. Com esse propósito, a proteína foi clonada em diferentes vetores de expressão de bactéria, a expressão foi confirmada em diferentes cepas de *E. coli* e a purificação parcial da proteína foi realizada. Além disso, o gene *Mp-aox* foi clonado em *S. cerevisiae*, um organismo modelo unicelular e eucariótico que não possui AOX. A expressão da enzima nesse sistema é de grande interesse para a realização de ensaios funcionais. Os dois sistemas desenvolvidos (*E. coli* e *S. cerevisiae*) servirão como plataforma de testes funcionais *in vivo* que poderão levar à identificação de compostos inibitórios a serem usados em campo para controle da doença vassoura de bruxa.

Oxidase alternativa - Vassoura de bruxa - *Monilophthora perniciosa*